

EFECTO DE LA INDOMETACINA SOBRE LA CITOPROTECCIÓN DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* CONTRA ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ESTRÉS EN RATONES.

R.E.Toso¹ y M.I.Skliar²

¹ Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Univesidad Nacional de La Pampa, Calle 5 y 116, 6360 General Pico, La Pampa. retoso@infovia.com.ar.

² Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, 8000 Bahía Blanca. mskliar@criba.edu.ar

RESUMEN

Ciertas prostaglandinas (PGs) y análogos sintéticos protegen la mucosa gastrointestinal contra agentes nocivos. Para estudiar la participación de las PGs endógenas sobre la citoprotección que producen extractos de *Centaurea solstitialis* L. Compositae (n.v. Abrepuño), se utilizó indometacina como agente bloqueante de la síntesis de PGs. Residuos de extractos metanólicos y clorofórmicos de flores de la planta fueron resuspendidos con una mezcla de excipientes Tween 80 (T80) y Carboximetilcelulosa (CMC), administrados por sonda gástrica a ratones hembras inmediatamente antes de ser sometidas a estrés por inmersión en agua. A un grupo de 5 ratones se les administró T80 + CMC (a). Otros 4 grupos, de igual número de animales, fueron tratados con extractos metanólicos (b,c) y clorofórmicos (d,e). Los grupos a, c y e, 1 hora antes del bioensayo, recibieron una dosis subcutánea de indometacina (5mg/kg). Luego de 4,5 h los animales fueron sacrificados. Los estómagos extraídos se insuflaron con formol al 10% y se sumergieron en la misma solución 24 h, se abrieron por la curvatura mayor para observar las lesiones. Los estómagos se fotografiaron y se determinó el área ulcerada (mm²) por medio de un analizador de imágenes. Se calculó el porcentaje de inhibición (PI) producido por los extractos en los grupos b, c, d y e con relación al grupo control a. Los PI fueron de un 100%; 98,13%; 91,89% y 48,74% para los grupos b, c, d y e respectivamente. La diferencia encontrada entre los grupos d y e (p<0,05) implicaría una participación parcial importante de las PGs en el mecanismo de acción citoprotector del extracto clorofórmico. Mientras tanto, los flavonoides, entre ellos el kaempferol, presentes en los extractos metanólicos de la planta, evidenciaron un efecto moderado que se complementaría con los efectos de otros componentes presentes en esta fracción, que permitiría plantear la posibilidad de un mecanismo de acción independiente al de las PGs.

Palabras claves: citoproteccion gástrica, indometacina, planta medicinal, *Centaurea solstitialis*

SUMMARY

A certain number of prostaglandins (PGs.) and synthetic analogs protect the gastrointestinal mucosa against noxious agents. To study the participation of endogenous PGs. on the cytoprotection that produce *Centaurea solstitialis* L., Compositae (n.v. Abrepuño) extracts, indomethacin as blocking agent of the PGs. synthesis was used. Residues of methanolic and chloroformic extracts of flowers of the plant with excipients mixture Tween 80 (T 80) and Carboxymethyl cellulose (CMC), were administered by gastric catheter to female mice immediately before subjecting them to stress by water immersion. A 5 mice group was administered T 80 + CMC (a). Another 4 groups, of equal number of animals, were treated with methanolic (b,c) and chloroformic (d,e) extracts. Groups a, c and e, received a subcutaneous dosis of indometacin (5 mg/kg) each, 1 hour before the bioassay. Four and a half hours later, the animals were sacrificed. The stomachs were removed and insufflated with formol at 10 % and they were sumerged for 24 hours in this solution, afterwards they were opened by the major

curvature, to observe lesions. The stomachs were photographed and the ulcering area (mm²) was determined by means of an image analyzer. Percentages of inhibition (PI) produced by the extracts in groups b, c, d and e compared with the control group a, were calculated. The PI were 100 %; 98.13 %; 91.89 % and 48.74 % for the groups b, c, d and e, respectively. The difference found between the groups d and e ($p < 0.05$) would implicate an important partial participation of the PGs. in the cytoprotector mechanism of action of the chloroformic extract. Meanwhile, flavonoids, among them kaempferol, present in the methanolic extracts of the plant, showed a moderate effect which would complement with the effects of other components of this fraction, and would allow to state the possibility of a mechanism of action independent of PGs.

Key words: gastric cytoprotective, indometacina, medicinal plant, *Centaurea solstitialis*.

INTRODUCCION

Las prostaglandinas (PGs) protegen el epitelio gástrico al inhibir la producción de ácido clorhídrico, aumentar la secreción de moco y bicarbonato, disminuir la exfoliación celular y aumentar el flujo sanguíneo de la mucosa (Goel et al., 1996)

. A esta propiedad se la denomina citoprotección (Robert et al., 1979).

Las PGs desempeñan un papel importante en la etiopatogenia de las úlceras por estrés o úlceras gástricas agudas, siendo esta patología muy común en animales sometidos a estrés quirúrgico, traumático o ante situaciones climáticas y de peligro. La etiopatogenia de esta enfermedad comienza con alteraciones de la barrera de la mucosa gástrica constituida por moco insoluble y una solución salina basal producida por las células epiteliales que cubren toda la superficie libre del estómago y las criptas (Crawford, 1998).

Estudios fitoquímicos de *Centaurea solstitialis* L. Compositae (n.v. Abrepuño), (Cs), han determinado la presencia de kaempferol en extractos metanólicos y varias lactonas sesquiterpénicas en extractos clorofórmicos (Hamburger et al., 1993). El efecto citoprotector de estos compuestos se ha relacionado con las prostaglandinas endógenas (Goel et al., 1996).

Estudios llevados a cabo con extractos clorofórmicos de Cs han revelado la presencia de sesquiterpeno lactonas, las cuales han sido señaladas como responsables de producir una encefalomalacia nigropálida en equinos (Cordy, 1978). El grupo α -metilen- γ -lactona presente en estos

compuestos, sería un requerimiento estructural determinante para que se exprese la actividad citoprotectora gástrica. Algunos compuestos que la poseen, como la dehidroleucodina, ejercen su acción citoprotectora mediada por grupos sulfhidrilos y prostaglandinas (Giordano et al., 1997).

Los extractos metanólicos utilizados para ensayar los efectos citoprotectores en ratones, poseen un gran número de componentes, los cuales podrían ejercer una acción complementaria sobre la protección gástrica, sin compartir los mismos mecanismos de acción. Recientemente se ha informado que la quercetina, otro flavonoide presente en la fracción metanólica de Cs, actuaría protegiendo la mucosa gástrica contra varios agentes injuriantes al actuar como antioxidante (Martin et al., 1998).

Para estudiar la participación de las PGs endógenas sobre la citoprotección que producen los extractos metanólicos y clorofórmicos de Cs, se utilizó indometacina evaluando la variación del efecto citoprotector al bloquear la síntesis de PGs.

MATERIALES Y METODOS

Residuos de extractos metanólicos y clorofórmicos de flores de la planta fueron resuspendidos con una mezcla de excipientes Tween 80 (T80) y Carboximetilcelulosa (CMC) administrados por sonda gástrica a ratones *Mus musculus* Cepa CF1 hembras inmediatamente antes de ser sometidos a estrés por inmersión en agua a temperatura 22 -

24 °C. A un grupo de 5 ratones se les administró T80 + CMC (a). Otros 4 grupos, de igual número de animales, fueron tratados con extractos metanólicos (b,c) y clorofórmicos (d,e). Los grupos a, c y e, 1 hora antes del bioensayo, recibieron una dosis subcutánea de indometacina (5mg/kg). Luego de 4,5 h los animales fueron sacrificados. Los estómagos extraídos se insuflaron con formol al 10% y

luego de sumergidos en la misma solución 24 h, se abrieron por la curvatura mayor para observar las lesiones. Los estómagos se fotografiaron y se determinó el área ulcerada (mm²) por medio de un analizador de imágenes. Se calculó el porcentaje de inhibición (PI) producido por los extractos en los grupos b, c, d y e con relación al grupo control a.

RESULTADOS

ESTOMAGOS DE RATONES PERTENCIENTES A LOS GRUPOS a, b, c, d y e

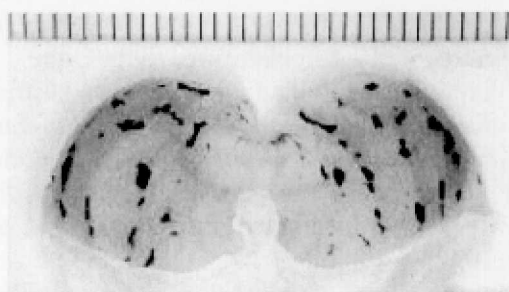


Fig. 1

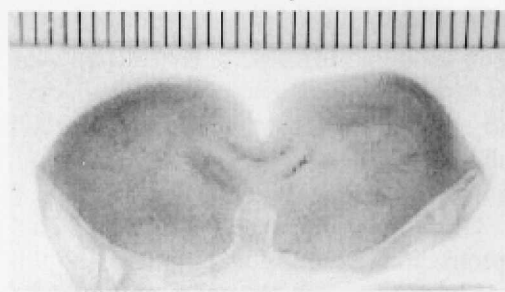


Fig. 2

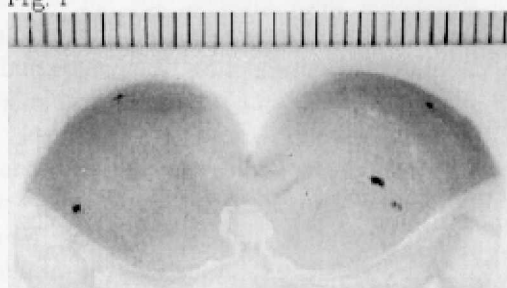


Fig. 3

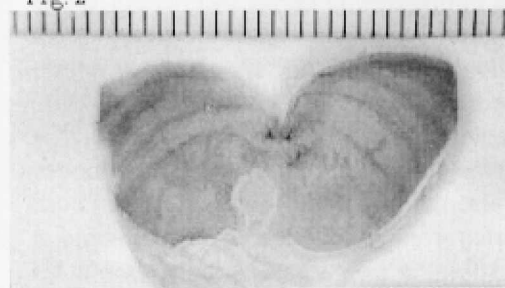


Fig. 4

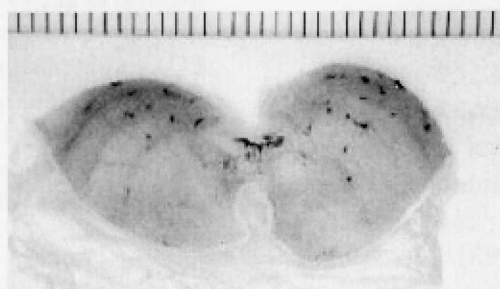


Fig. 5

Estómagos extraídos de ratones según procedimiento explicado en Materiales y Métodos.

Fig 1, 2, 3, 4, 5: estómago de ratón representativo perteneciente al grupo a, b, c, d y e respectivamente.

La inyección subcutánea de indometacina 1 hora antes de la admi-

nistración oral de los excipientes (Grupo a), produjo en los estómagos de los ratones,

luego de 4,5 hs de sometidos a estrés por inmersión en agua, severas lesiones ulcerosas (Fig 1).

Los estómagos de ratones tratados con extracto metanólico, sin indometacina, (Grupo b), evidencian ausencia total de lesiones (Fig 2). Mientras que en los estómagos del Grupo c (extracto metanólico + indometacina) se observan muy pocas úlceras (Fig 3).

En la Fig 4 se evidencian zonas erosionadas que acompañan los pliegues de la mucosa del estómago de ratones a los

que se administró extracto clorofórmico sin indometacina (Grupo d).

La Fig 5 (Grupo e: extracto clorofórmico + indometacina) muestra el estómago con las mismas erosiones descritas para el Grupo d, pero en este caso, las lesiones ulcerosas son de mayor intensidad.

Con los resultados obtenidos de los distintos tratamientos se determinó el área ulcerada en mm², de cada estómago de ratón y se calculó luego el porcentaje de inhibición (PI) producido por los extractos metanólico y clorofórmico. (Tabla 1).

Tabla 1

Efecto citoprotector de extractos metanólicos y clorofórmicos de *C. Solstitialis* contra lesiones gástricas en ratones.

GRUPO	a	b	c	d	e
Área ulcerada (mm ²) ¹	72,39	0	1,35	5,87	37,10
Porcentaje de inhibición ²	—	100 ³	98,13 ³	91,89 ³	48,74 ⁴

1: Los valores fueron obtenidos mediante la suma de la superficie ulcerada de cada estómago.

2: El porcentaje de inhibición obtenido en los grupos b,c,d y e se calculó en relación al grupo control a.

3: Los porcentajes de inhibición entre los grupos b, c y d respecto al grupo control a, fueron no significativos (Test t de Student).

4: El PI del grupo e respecto al control a fue significativo ($p < 0,05$); n=5.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La indometacina no inhibe significativamente el efecto citoprotector del extracto metanólico (Fig. 3). Esto, puede explicarse debido a la presencia de los flavonoides kaempferol y quercetina. Mientras el kaempferol posee una acción citoprotectora relacionada con las prostaglandinas (Goel et al., 1996), la quercetina actuaría como un inhibidor de la motilidad gástrica (Hammad y Abdalla, 1997) con efecto antioxidante (Martin et al., 1998). Los estudios fitoquímicos realizados y los resultados encontrados evidencian una acción moderada del kaempferol, ya que al

inhibir la síntesis de prostaglandinas se mantiene el efecto citoprotector.

Estudios fitoquímicos previos de la planta y el esquema de extracción utilizado sugieren que el efecto citoprotector del extracto clorofórmico se debe a la presencia de lactonas sesquiterpénicas con un grupo carbonilo α - β insaturado (Rodriguez et al., 1997). Los resultados hallados en este ensayo determinan que dicho efecto citoprotector del extracto es inhibido parcialmente al bloquear la síntesis de prostaglandinas con indometacina (Fig. 5). Resultados similares fueron encontrados en fracciones clorofórmicas extraídas de *Artemisia douglasiana*, pudiéndose además determinar la presencia de otro mecanismo

de acción relacionado con una reacción de Michael donde participarían grupos sul-

hidrilo de péptidos propios de la mucosa gástrica (Giordano et al., 1997).

BIBLIOGRAFIA

GOEL, R. K.; MAITI, R. N.; TAVARES, L. A. -1996- Role of endogenous eicosanoids in the antiulcer effect of kaempferol. *Fitoterapia* 67: 548-552.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J.E.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A. J. -1979- Cytoprotection by prostaglandins in ratas. *Gastroenterology* 77: 433-443.

CRAWFORD, J. M. El tracto gastrointestinal. En: *Patología estructural y funcional*. -1998- 5ª edición. (F. J. Schoen, ed.), Ed. McGraw-Hill Interamericana. Getafe (Madrid, España), p. 857.

HAMBURGER, M.; WOLFENDER, J. L.; HOSTETTMANN, K. -1993- Search for chlorinated sesquiterpene lactones in the neurotoxic thistle *Centaurea solstitialis* by liquid chromatography - mass spectrometry, and model studies on their possible artifactual formation. *Natural Toxins* 1:315 - 327.

CORDY, D.R. -1978- *Centaurea* species and equine nigropallidal encephalomalacia. En: "Effects of poisonous plants on livestock". R.F. Keeler; K.R. Van Kampen; L.F. James (eds). Ed. Academic Press, New York, EE.UU., pp. 327-336.

GIORDANO, O. S.; GUERREIRO, E., GUZMAN. J. A.; PENISSI, A. B. PIEZZI, R. S. -1997- Citoprotectores gastrointestinales obtenidos a partir de especies vegetales. *Pren. Méd. Argent.* 84: 890-899.

MARTIN, M. J.; LA CASA, C.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; CABEZA, J.; VILLEGAS, I.; MOTILVA, V. -1998- Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch.* 53: 82-88.

HAMMAD, H. M.; ABDALLA, S. S. -1997- Pharmacological effects of selected flavonoid on rat isolated ileum: structure-activity relationship. *Gen. Pharmac.* 28: 767-771.

RODRIGUEZ, A. M.; ENRIZ, R. D.; SANTAGATA, L. N.; JAUREGUI, E. A.; PESTCHANKER, M. J.; GIORDANO, O. S. -1997- Structure-cytoprotective activity relationship of simple molecules containing an α,β -unsaturated carbonyl system. *J. Med. Chem.* 40: 1827-1834.